

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

HIROTA, Masanori
Room 502, Akasakaaoi Bldg. No.11
8-11, Akasaka 2-chome
Minato-ku, Tokyo 107-0052
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 04 January 2001 (04.01.01)		IMPORTANT NOTICE	
Applicant's or agent's file reference A031-24PCT			
International application No. PCT/JP00/04132	International filing date (day/month/year) 23 June 2000 (23.06.00)	Priority date (day/month/year) 25 June 1999 (25.06.99)	
Applicant JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION et al			

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:
AU,US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:
CA,EP

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on
04 January 2001 (04.01.01) under No. WO 01/00015

REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the national phase, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer J. Zahra Telephone No. (41-22) 338.83.38
--	---

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

HIROTA, Masanori
Room 502, Akasaka Bldg. No.11
8-11, Akasaka 2-chome
Minato-ku, Tokyo 107-0052
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 06 September 2000 (06.09.00)	
Applicant's or agent's file reference A031-24PCT	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/JP00/04132	International filing date (day/month/year) 23 June 2000 (23.06.00)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 25 June 1999 (25.06.99)
Applicant JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION et al	

1. The applicant is hereby notified of the date of receipt (except where the letters "NR" appear in the right-hand column) by the International Bureau of the priority document(s) relating to the earlier application(s) indicated below. Unless otherwise indicated by an asterisk appearing next to a date of receipt, or by the letters "NR", in the right-hand column, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
2. This updates and replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents.
3. An asterisk(*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b). In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
4. The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which was not received by the International Bureau or which the applicant did not request the receiving Office to prepare and transmit to the International Bureau, as provided by Rule 17.1(a) or (b), respectively. In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

<u>Priority date</u>	<u>Priority application No.</u>	<u>Country or regional Office or PCT receiving Office</u>	<u>Date of receipt of priority document</u>
25 June 1999 (25.06.99)	11/180600	JP	11 Augu 2000 (11.08.00)

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Masashi HONDA

Telephone No. (41-22) 338.83.38

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT
NOTIFICATION OF TRANSMITTAL
OF COPIES OF TRANSLATION
OF THE INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT

(PCT Rule 72.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

HIROTA, Masanori
 Room 502, Akasaka Bldg. No.11
 8-11, Akasaka 2-chome
 Minato-ku, Tokyo 107-0052
 JAPON

Date of mailing (day/month/year) 18 February 2002 (18.02.02)	
Applicant's or agent's file reference A031-24PCT	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/JP00/04132	International filing date (day/month/year) 23 June 2000 (23.06.00)
Applicant JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION et al	

1. Transmittal of the translation to the applicant.

The International Bureau transmits herewith a copy of the English translation made by the International Bureau of the international preliminary examination report established by the International Preliminary Examining Authority.

2. Transmittal of the copy of the translation to the elected Offices.

The International Bureau notifies the applicant that copies of that translation have been transmitted to the following elected Offices requiring such translation:

EP,AU,CA,US

The following elected Offices, having waived the requirement for such a transmittal at this time, will receive copies of that translation from the International Bureau only upon their request:

None

3. Reminder regarding translation into (one of) the official language(s) of the elected Office(s).

The applicant is reminded that, where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary examination report.

It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned (Rule 74.1). See Volume II of the PCT Applicant's Guide for further details.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer Elliott PERETTI Telephone No. (41-22) 338.83.38
--	--

THIS PAGE BLANK (USPTO,

PCT

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
〔PCT18条、PCT規則43、44〕

出願人又は代理人 書類記号 A031-24PCT	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP00/04132	国際出願日 (日.月.年) 23.06.00	優先日 (日.月.年) 25.06.99
出願人(氏名又は名称) 科学技術振興事業団		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 4 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☒ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 1 図とする。 ☒ 出願人が示したとおりである。

☐ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところこの国際調査機関は認めた。

請求の範囲1-7は、グッドパスチャー症候群モデル非ヒト動物に関するものである。
請求の範囲8は、ヒトの被験細胞を用いたグッドパスチャー症候群の早期診断法に関するものである。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☒ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. A01K 67/027, A61K 45/00, A61P 11/00,
A61P 13/12, G01N 33/50, G01N 33/15,
C12Q 1/68, C12N 15/12

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. A01K 67/027, A61K 45/00, A61P 11/00,
A61P 13/12, G01N 33/50, G01N 33/15,
C12Q 1/68, C12N 15/12

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

MEDLINE, BIOSIS

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
T	A. Nakamura et al., J. Exp. Med., vol. 191(5), p. 899-905 (2000)	1-8
Y1	T. Yuasa et al., J. Exp. Med., vol. 189(1), p. 187-194 (Jan. 1999)	1-8
Y1	T. Takai et al., Nature, vol. 379, p. 346-349 (1996)	1-8
Y2	R. Kalluri et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA., vol. 91, p. 6201-6205 (1994)	1-8

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

11.08.00

国際調査報告の発送日

22.08.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

長井 啓子



2B

9123

電話番号 03-3581-1101 内線 3236

THIS PAGE BLANK (USPTO)

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y2	S. Gunwae et al., Am. J. Respir. Cell Mol. Biol., vol. 5, p. 107-112 (1991)	1-8
A	J. Reynolds et al., Nephrol. Dial. Transplant., vol. 13, p. 44-52 (1998)	1-7

THIS PAGE BLANK (USPTO)

特 許 協 力 条 約

P C T

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
〔PCT36条及びPCT規則70〕


REC'D 22 JUN 2001

WIPO PCT

出願人又は代理人 の書類記号 A031-24PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO0/04132	国際出願日 (日.月.年) 23.06.00	優先日 (日.月.年) 25.06.99
国際特許分類(IPC) Int.Cl. ⁷ A01K 67/027, A61K 45/00, A61P 11/00, A61P 13/12, G01N 33/50, G01N 33/15, C12Q 1/68, C12N 15/12		
出願人(氏名又は名称) 科学技術振興事業団		

- 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
- この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 4 ページからなる。
☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で ページである。

- この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
 - ☒ 国際予備審査報告の基礎
 - ☐ 優先権
 - ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
 - ☒ 発明の単一性の欠如
 - ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
 - ☐ ある種の引用文献
 - ☐ 国際出願の不備
 - ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 17.01.01	国際予備審査報告を作成した日 06.06.01	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 長 井 啓 子 	2B 9123
電話番号 03-3581-1101 内線 3236		

THIS PAGE BLANK (USPTO)

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- | | | | |
|-------------------------------------|---------|--------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 _____ | ページ、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 _____ | ページ、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 _____ | ページ、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| | | | |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ | 項、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ | 項、 | PCT19条の規定に基づき補正されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ | 項、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ | 項、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| | | | |
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 _____ | ページ/図、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 _____ | ページ/図、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 _____ | ページ/図、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| | | | |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 | 第 _____ | ページ、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 | 第 _____ | ページ、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 | 第 _____ | ページ、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

THIS PAGE BLANK (CONT.)

IV. 発明の単一性の欠如

1. 請求の範囲の減縮又は追加手数料の納付の求めに対して、出願人は、

- ☐ 請求の範囲を減縮した。
- ☐ 追加手数料を納付した。
- ☐ 追加手数料の納付と共に異議を申立てた。
- ☐ 請求の範囲の減縮も、追加手数料の納付もしなかった。

2. ☐ 国際予備審査機関は、次の理由により発明の単一性の要件を満たしていないと判断したが、PCT規則68.1の規定に従い、請求の範囲の減縮及び追加手数料の納付を出願人に求めないこととした。

3. 国際予備審査機関は、PCT規則13.1、13.2及び13.3に規定する発明の単一性を次のように判断する。

- ☐ 満足する。
- ☒ 以下の理由により満足しない。

請求の範囲1-7の特別な技術的特徴はグッドパスチャー症候群モデル非ヒト動物に関し、請求の範囲8の特別な技術的特徴はヒトの被験細胞を用いたグッドパスチャー症候群の早期発見に関するものである。これらの発明は、一又は二以上の同一又は対応する特別な技術的な関係にないから、単一の一般的発明概念を形成するように連関しているものとは認められない。

4. したがって、この国際予備審査報告書を作成するに際して、国際出願の次の部分を、国際予備審査の対象にした。

- ☐ すべての部分
- ☐ 請求の範囲 _____ に関する部分

THIS PAGE BLANK (USPTO)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条（PCT35条(2)）に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)	請求の範囲	1 - 8	有
	請求の範囲		無
進歩性 (IS)	請求の範囲		有
	請求の範囲	1 - 8	無
産業上の利用可能性 (IA)	請求の範囲	1 - 8	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

文献1 : T. Takai et al., Nature, vol. 379, p. 346-349 (1996)
 文献2 : T. Yuasa et al., J. Exp. Med., vol. 189(1), p. 187-194 (Jan. 1999)
 文献3 : R. Kalluri et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA., vol. 91, p. 6201-6205 (1994)

(1) 請求項1, 2

文献1には免疫グロブリンFcγレセプターIIB遺伝子機能が欠損したマウスは抗原に対する免疫グロブリンレベルが上昇するので、免疫グロブリンFcγレセプターIIBは免疫複合体誘導活性をネガティブに制御する因子であってその解明が自己免疫疾患の治療法開発に有効であることが、文献2には免疫グロブリンFcγレセプターIIB遺伝子機能が欠損したマウスをタイプIIコラーゲンで免疫することにより自己免疫疾患であるタイプIIコラーゲン誘発性関節炎(CIA)を発症することが、文献3にはタイプIVコラーゲンに対する自己免疫反応がグッドパスチャー症候群を引き起こすことが、それぞれ開示されている。

文献1及び文献2の開示により、タイプIIコラーゲンと同様の自己免疫疾患誘導抗原であるタイプIVコラーゲン(文献3)で免疫グロブリンFcγレセプターIIB遺伝子機能が欠損したマウスを免疫した場合にも該マウスが自己免疫疾患(グッドパスチャー症候群)を発症するであろうことは当業者が容易に推考し得る程度のことである。

よって、本請求項は、文献1～3により進歩性を有さない。

(2) 請求項3～7

病態モデル動物に被験物質を投与して治療薬をスクリーニングすることは常套手段である。

よって、本請求項は、文献1～3により進歩性を有さない。

(3) 請求項8

文献1及び文献2の開示により免疫グロブリンFcγレセプターIIB遺伝子機能の欠損が自己免疫疾患の一原因であることが示唆されるので、免疫グロブリンFcγレセプターIIB遺伝子機能の欠損の有無を調べることによりグッドパスチャー症候群の診断を行えるであろうことは当業者にとって自明な程度のことである。

よって、本請求項は、文献1及び2により進歩性を有さない。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2001年1月4日 (04.01.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/00015 A1

(51) 国際特許分類: A01K 67/027, A61K 45/00, A61P 11/00, 13/12, G01N 33/50, 33/15, C12Q 1/68, C12N 15/12

(21) 国際出願番号: PCT/JP00/04132

(22) 国際出願日: 2000年6月23日 (23.06.2000)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願平11/180600 1999年6月25日 (25.06.1999) JP

(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 科学技術振興事業団 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION) [JP/JP]; 〒332-0012 埼玉県川口市本町四丁目1番8号 Saitama (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 中村 晃

(NAKAMURA, Akira) [JP/JP]; 〒981-0952 宮城県仙台市青葉区中山七丁目16番18号 Miyagi (JP). 貫和敏博 (NUKIWA, Toshihiro) [JP/JP]; 〒989-3201 宮城県仙台市青葉区国見ヶ丘二丁目22番1号 Miyagi (JP). 高井俊行 (TAKAI, Toshiyuki) [JP/JP]; 〒981-0952 宮城県仙台市青葉区中山四丁目18番1号 506号室 Miyagi (JP).

(74) 代理人: 廣田雅紀 (HIROTA, Masanori); 〒107-0052 東京都港区赤坂二丁目8番11号 第11赤坂葵ビル502 Tokyo (JP).

(81) 指定国(国内): AU, CA, US.

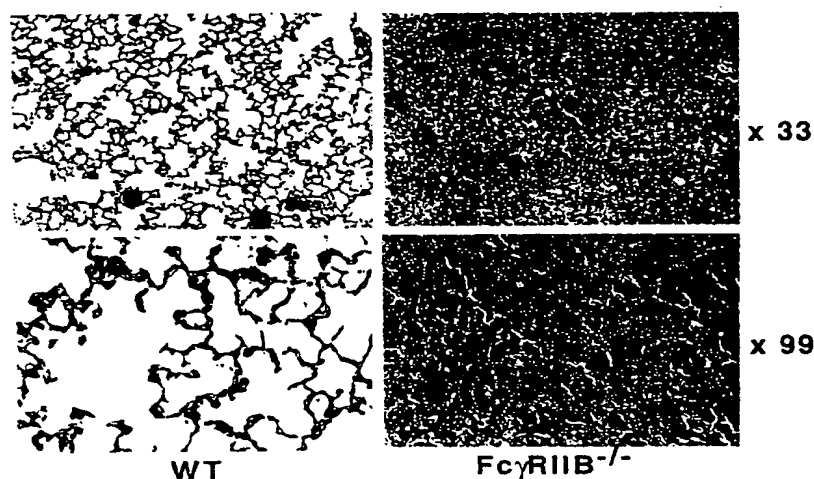
(84) 指定国(広域): ヨーロッパ特許 (DE, FR, GB, IT).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: GOODPASTURE'S SYNDROME MODEL MOUSE

(54) 発明の名称: グッドパスチャー症候群モデルマウス



(57) Abstract: A non-human model animal of Goodpasture's syndrome contributing to the treatment of Goodpasture's syndrome the development of therapy for which has been delayed due to the lack of adequate disease models; a method for screening a remedy for Goodpasture's syndrome by using the model animal; and a method for diagnosing Goodpasture's syndrome at the early stage. An immunoglobulin Fc γ receptor IIB knockout mouse is immunized with type IV collagen to induce Goodpasture's syndrome, thereby constructing a model mouse of Goodpasture's syndrome. Then test substances are administered to the model mouse and thus a remedy for Goodpasture's syndrome is screened based on the evaluation of the severity of the expression of Goodpasture's syndrome (i.e., diffuse alveolar hemorrhage, glomerulonephritis, the appearance of antikidney glomerular basement membrane antibody, etc.).

[続葉有]

WO 01/00015 A1



(57) 要約:

適切な病態モデルが存在しておらず治療方法の開発が遅れているグッドパスチャー症候群の治療の道を拓くグッドパスチャー症候群モデル非ヒト動物や、これを用いたグッドパスチャー症候群治療薬のスクリーニング方法や、グッドパスチャー症候群の早期診断法を提供するものである。免疫グロブリンFcγレセプターIIBノックアウトマウスをタイプIVコラーゲンで免疫し、グッドパスチャー症候群を誘導し、グッドパスチャー症候群モデルマウスを作製する。また、このグッドパスチャー症候群モデルマウスに被検物質を投与し、びまん性肺胞出血、糸球体腎炎及び抗腎糸球体基底膜抗体出現等のグッドパスチャー症候群の発現の程度を指標として評価することにより、グッドパスチャー症候群治療薬をスクリーニングする。

明 細 書

グッドパスチャー症候群モデルマウス

5 技術分野

本発明は、グッドパスチャー症候群モデル非ヒト動物や、これを用いたグッドパスチャー症候群治療薬のスクリーニング方法や、グッドパスチャー症候群の早期診断法に関する。

10 背景技術

びまん性肺胞出血、糸球体腎炎及び抗腎糸球体基底膜抗体出現の3つを合わせもつグッドパスチャー症候群は、ヴェゲナー肉芽腫症 (Wegener's granulomatosis)、全身性壊死性血管炎及び全身性エリテマトーデス (SLE) 等と臨床像として共通性があるが、患者血清中に腎糸球体基底膜と肺胞上皮基底膜に対する共通する抗体が存在し、これらが標的組織に結合してII型過敏症反応に基づく炎症病巣を惹起させると考えられている (J. Exp. Med. 126, 989-1004, 1987)。グッドパスチャー症の診断は、上記の臨床像の特徴のほかに、腎糸球体基底膜への免疫グロブリン (以下「Ig」という) 沈着の証明によってなされ、抗基底膜抗体の大部分はIgG画分に属し、近年、タイプIVコラーゲンの α_3 鎖の一部に対する自己抗体と同定されている (Cell Mol. Biol. 5, 107-112, 1991)。

また、グッドパスチャー症候群は、広い年齢層にわたって発症し、早期診断及び早期治療がなされなければ80%の患者は1年以内に腎症の悪化により死亡し、30%の患者は肺出血によって死亡する。早期治療によって、最近ではグッドパスチャー症の救命率は約50%にまで向上

しているが、経口ステロイド剤又は経口免疫抑制剤のみの治療では不十分で、肺出血に対しては高用量のプレドニンパルス療法が効果的である。しかし、腎症に対してはパルス療法は十分ではなく、血漿交換と高用量プレドニン、それにサイクロホスファミドの併用が有効であるとされ、

5 また、高度な腎障害では、人工透析あるいは腎移植の対象となっている。

他方、免疫系などの細胞の表面上には、I g の F c 部分を認識して結合するレセプター（以下「F c R」という）が存在し、その中でも体液中の I g G の γ 鎖に特異的に結合する受容体蛋白質である F c γ レセプター（以下「F c γ R」という）は遺伝子構造の類似性に基づいてタイプ I（CD 6 4 抗原）、タイプ II（CD 3 2 抗原）、タイプ III（CD 1 6 抗原）の 3 種に大きく分類されている。これらのうち、F c γ R II は、他の F c R とは異なりモノマーの I g G に対して低親和性であり、免疫複合体となった多価 I g G と結合し、単球、マクロファージ、多形核白血球（PMN）、マスト細胞、血小板、いくつかの T 細胞リンパ球及びいくつかの B 細胞リンパ球を含む造血幹細胞に広く発現する。また、F c γ R II には遺伝子配列が異なる F c γ R IIA、F c γ R IIB 及び F c γ R IIC の 3 種類の受容体が存在しており、いずれの染色体も 1 q 2 3 に位置していることも知られている。

10
15

上記 F c γ R IIB は、他の F c R とは異なり、 γ 鎖と会合することなく、しかも細胞内領域に抑制性シグナルを伝達するアミノ酸配列（I T I M : Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibition Motif）を有している（Immunol. Rev. 125, 49-76, 1992、Science 256, 1808-1812, 1992）。このような F c γ R IIB の生理的機能を解明するために、本発明者らは F c γ R IIB 欠損マウスを既に作出し（Nature 379, 346-349, 1996）、

20
25

F c γ R IIB 欠損マウスをタイプ II コラーゲンで免疫することによる関節炎モデルマウス（J. Exp. Med. 189, 187-194, 1999）や、自己免疫疾

患モデル動物を作製した（特開平 0 8 - 2 8 9 6 9 9 号公報）。

早期診断及び早期治療をしなければ 8 0 % の患者が 1 年以内に腎症の悪化により死亡し、そのうち 3 0 % の患者は肺出血によって死亡するというグッドパスチャー症候群の病態の研究やグッドパスチャー症候群の治療法の開発に有効な動物モデルは現在まで知られていない。本発明の課題は、その発症機構を解明するための適切な病態モデルが存在しておらず治療方法の開発が遅れているグッドパスチャー症候群の治療の道を拓くグッドパスチャー症候群モデル非ヒト動物や、これを用いたグッドパスチャー症候群治療薬のスクリーニング方法や、グッドパスチャー症候群の早期診断法を提供することにある。

発明の開示

本発明者らは、F c γ R I I B の生理的機能の解明について鋭意研究を進めていたところ、F c γ R I I B 遺伝子機能が染色体上で欠損したマウス、すなわち F c γ R I I B ノックアウトマウスをタイプ IV コラーゲンで免疫することにより、該 F c γ R I I B ノックアウトマウスがグッドパスチャー症候群の徴候を示すことを見い出し、本発明を完成するに至った。

すなわち本発明は、免疫グロブリン F c γ レセプター I I B 遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物をタイプ IV コラーゲン又はそのアミノ酸配列の一部を含むペプチドで免疫することにより得られるグッドパスチャー症候群モデル非ヒト動物、特にグッドパスチャー症候群モデルマウスに関する。

また本発明は、免疫グロブリン F c γ レセプター I I B 遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物をタイプ IV コラーゲンで免疫する前後又は免疫すると同時に、該非ヒト動物に被検物質を投与し、グッドパスチャー症候群の発現の程度を指標として評価することを特徴とするグッド

パスチャー症候群治療薬のスクリーニング方法や、グッドパスチャー症候群モデル非ヒト動物に被検物質を投与し、グッドパスチャー症候群の発現の程度を指標として評価することを特徴とするグッドパスチャー症候群治療薬のスクリーニング方法や、グッドパスチャー症候群の発現の程度を指標として評価するに際し、対照として用いた野生型の非ヒト動物との比較評価を行うことを特徴とする上記グッドパスチャー症候群治療薬のスクリーニング方法や、グッドパスチャー症候群の発現が、びまん性肺胞出血、糸球体腎炎及び抗腎糸球体基底膜抗体出現のうちの少なくとも1つであることを特徴とする上記グッドパスチャー症候群治療薬のスクリーニング方法や、非ヒト動物がマウスであることを特徴とする上記グッドパスチャー症候群治療薬のスクリーニング方法に関する。

さらに本発明は、ヒトの被験細胞からFcγレセプターIIB遺伝子を抽出し、その遺伝子機能の欠損の有無を調べることを特徴とするグッドパスチャー症候群の早期診断法に関する。

15

図面の簡単な説明

第1図は、タイプIVコラーゲン免疫によるグッドパスチャー症候群様の肺胞出血を示す図である。

第2図は、タイプIVコラーゲン免疫によるグッドパスチャー症候群様の糸球体腎炎を示す図である。

20

第3図は、タイプIVコラーゲン免疫に対する抗体価のレベルを示す図である。

発明を実施するための最良の形態

本発明において、FcγRIIB遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物とは、FcγRIIBをコードする非ヒト動物の内在性遺伝子が破

25

壊・欠損・置換等の遺伝子変異により不活性化され、Fc γ R IIBを発現する機能を失なった非ヒト動物をいう。また本発明における非ヒト動物としては、マウス、ラット等の齧歯目動物を具体的に挙げることができるが、これらに限定されるものではない。

5 例えば、Fc γ R IIB 遺伝子機能が染色体上で欠損したマウス、すなわち Fc γ R IIB ノックアウトマウスは、本発明者らの前掲の文献 (Nature 379, 346-349, 1996) に記載する方法等によって作製することができる。具体的には、マウス遺伝子ライブラリーから PCR 等の方法により得られた遺伝子断片を用いて、Fc γ R IIB 遺伝子をスクリーニ
10 ングし、スクリーニングされた Fc γ R IIB 遺伝子をウイルスベクター等を用いてサブクローンし、DNA シーケンシングにより特定する。このクローンの S₂ エキソン及び E C₁ エキソンを含むフラグメントを p M C 1 ネオ遺伝子カセット等に置換することによって、ターゲットベクターを作製する。

15 この線状化されたベクターをエレクトロポレーション（電気穿孔）法等によって E S 細胞に導入し、相同的組換えを行い、その相同的組換え体の中から、G 4 1 8 等に抵抗性を示す E S 細胞を選択し、その細胞のクローンをマウスの胚盤胞中にマイクロインジェクションし、かかる胚盤胞を仮親のマウスに戻し、キメラマウスを作製する。このキメラマウ
20 スを野生型のマウスとインタークロスさせると、ヘテロ接合体マウスを得ることができ、また、このヘテロ接合体マウスをインタークロスさせることによって、Fc γ R IIB ノックアウトマウスを得ることができる。

 本発明において、Fc γ R IIB 遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物にグッドパスチャー症候群を誘導するために用いられる免疫源と
25 しては、タイプ IV コラーゲンを具体的に例示することができるが、Fc γ R IIB 遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物にグッドパスチ

ヤー症候群を誘導することができるものであれば、タイプ IV コラーゲンのアミノ酸配列の一部を含むペプチドなどどのようなものでもよい。

本発明において、グッドパスチャー症候群モデル非ヒト動物とは、びまん性肺胞出血、糸球体腎炎及び抗腎糸球体基底膜抗体出現の 3 つの徴候を合わせもつマウス等の非ヒト動物であればどのような非ヒト動物でもよく、例えば Fc γ R IIB 遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物をタイプ IV コラーゲンで免疫することにより得ることができる。

本発明におけるグッドパスチャー症候群治療薬のスクリーニング方法としては、Fc γ R IIB 遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物をタイプ IV コラーゲンで免疫しグッドパスチャー症候群を誘導する前や後あるいはタイプ IV コラーゲンで免疫しグッドパスチャー症候群を誘導すると同時に、該非ヒト動物にグッドパスチャー症候群治療薬の候補となる被検物質を投与し、グッドパスチャー症候群の発現（諸症状の出現）の程度を指標として評価する方法や、グッドパスチャー症候群モデル非ヒト動物にグッドパスチャー症候群治療薬の候補となる被検物質を投与し、グッドパスチャー症候群の発現の程度を指標として評価する方法を挙げることができる。

また、グッドパスチャー症候群の発現の程度を指標として評価するに際し、グッドパスチャー症候群モデル非ヒト動物と同種の野生型の非ヒト動物を対照として用い、グッドパスチャー症候群モデル非ヒト動物と対照としての同種の野生型非ヒト動物とにおけるグッドパスチャー症候群の発現の程度を比較評価することもできる。

グッドパスチャー症候群の発現（諸症状の出現）の程度の指標としては、肺組織におけるびまん性肺胞出血、腎組織における糸球体腎炎及び抗腎糸球体基底膜抗体出現のうちの少なくともいずれか 1 つを好ましく例示することができるが、この他、肺胞に沈着している抗基底膜抗体の

出現、血清クレアチニンのレベル又は糸球体ろ過値等を挙げることもできる。このような指標のうち少なくとも1つについて評価することにより、グッドパスチャー症候群治療薬をスクリーニングすることができる。

- 本発明のグッドパスチャー症候群の早期診断法としては、ヒトの被験
- 5 細胞からFcγRIIB遺伝子を抽出し、その遺伝子機能の欠損の有無を調べることにより診断する方法を具体的に挙げるができる。そして、FcγRIIB遺伝子源としてのヒトの被験細胞としては、例えば、マクロファージ、マスト細胞、B細胞、樹状細胞等を挙げることができ、またFcγRIIB遺伝子の遺伝子機能の欠損の有無を調べる方法としては、
- 10 クローニングされたFcγRIIB遺伝子を常法によりヒト株化細胞で発現させ、この発現産物のFcγRIIB機能、例えばIgG免疫複合体との結合を調べる方法を例示することができる。発現産物にFcγRIIB機能が欠損している場合は、グッドパスチャー症候群が発症する可能性があり、上記のように、FcγRIIB遺伝子の遺伝子機能の欠損の有無
- 15 を調べることによりグッドパスチャー症候群の早期診断法が可能となる。

以下に、実施例等を挙げてこの発明を更に具体的に説明するが、この発明の技術的範囲はこれらの実施例に限定されるものではない。

参考例（FcγRIIB欠損マウスの作製）

- 129/Sv/J系統由来のマウスのゲノムDNAライブラリーをス
- 20 クリーニングすることによって、FcγRIIB遺伝子のゲノムDNAのクローンを単離した。このクローンのS₂及びEC₁の2つの独立したエキソンを含む2.65KbのフラグメントをpMC1ネオ遺伝子カセット（東洋紡社製）に、置換することによってターゲットベクターを作製した。この線状化したベクターをエレクトロポレーションによってES
- 25 細胞（J1）に導入し、相同的組換えを行った。

上記の相同的組換えを起こしたES細胞からESクローンを単離し、

G 4 1 8 及び G A N C (ガンシクロピア) に対してネオマイシン耐性 E S クローンをスクリーニングし、サザンブロット法によって相同的組換え体を同定した。その同定された相同的組換え体からゲノム DNA を単離して、H i n d III でダイジェストし、p M C 1 ネオ遺伝子カセットを含むターゲティングされた対立遺伝子を含んでいることを確認した。かかる確認された E S クローンを胚盤胞中にマイクロインジェクションし、キメラマウスを作製し、作製されたマウスを野生型の C 5 7 B L / 6 J マウスとインタークロスさせることによってヘテロ接合体マウスを得て、また、ホモ接合体マウスを得るために、このヘテロ接合体マウスをインタークロスさせて、F c γ R I I B 遺伝子が染色体上で欠損した欠損マウス及びその野生型マウスを作製した。

実施例 1 (グッドパスチャー症候群モデルマウスの作製)

1 m M の H C 1 溶液 (p H 3 . 0) に 3 m g / m l の蛋白濃度で牛水晶体から調製されたセルマトリックス IV (新田ゼラチン株式会社製) に、最終濃度で 1 m M になるように N a O H を加えてタイプ IV コラーゲン (p H 8 . 0) を作製した。このタイプ IV コラーゲン (p H 8 . 0) 3 m g / m l と、流動パラフィン、界面活性剤及び結核死菌からなる完全フロイントアジュバンド (C F A) 3 m g / m l とを連結シリンジ中で混合して、またタイプ IV コラーゲン (p H 8 . 0) 3 m g / m l と、流動パラフィンと界面活性剤とからなる不完全フロイントアジュバント (I F A) 3 m g / m l とを連結シリンジ中で混合して、2 種類のエマルジョンを作製した。

上記参考例記載の方法により作製した F c γ R I I B 遺伝子欠損マウス (8 週齢 : 雌雄差なし) をエーテルで麻酔し尾根部を剃毛し、タイプ IV コラーゲンと C F A とをそれぞれ 1 5 0 μ g 含むエマルジョン 1 0 0 μ l をマウスの皮内に注射して一次免疫を行い、その一次免疫後、1 4、

28及び42日目に、タイプIVコラーゲンとIFAとをそれぞれ150 μ g含むエマルジョン100 μ lを皮内に注射し、56日目にマウスを屠殺し、肺及び腎臓組織を採取した。また、対照としては野生型マウスを用いた。

- 5 図1に示すように、タイプIVコラーゲンで免疫されたFc γ RIIIB遺伝子欠損マウス(Fc γ RIIIB^{-/-})は対照の野生型マウス(WT)に比べて、肺組織においてマクロファージや好中球等の炎症細胞浸潤を含む広い範囲で著しい肺胞出血を示し、また、図2に示すように、腎組織において糸球体や近位尿細管の変性が生起しており、糸球体腎炎を主体とする腎病変が生じていた。これらの結果から、Fc γ RIIIB遺伝子欠損マウスをタイプIVコラーゲンで免疫すると、グッドパスチャー症候群モデルマウスが得られることがわかる。

実施例2 (タイプIVコラーゲンに対する抗体価の検査)

- 15 Fc γ RIIIBノックアウトマウス、FcR γ ノックアウトマウス、野生型マウスのそれぞれに、タイプIVコラーゲンで免疫し、所定期間の後、眼窩より採血を行ない、文献(Cell. Immunol. 145, 299-310, 1992)記載のELISA分析に改良を加えた以下の方法により、タイプIVコラーゲンに対する抗体価を検査した。

- 20 リン酸緩衝溶液(PBS) 1mlに20 μ gのタイプIVコラーゲンを溶解させ、この溶解液を1ウェル当たり50 μ lの割合で用い、96ウェルマイクロプレート(Falcon; Becton Dickinson Labware社製)を4℃にて一晩コーティングした後、0.05%のTween 20と0.1%のBSAを含むPBSで3回洗浄し、1ウェル当たり250 μ lの0.2%のBSAを含むPBSで4℃にて一晩ブロックした。

次に上記血液から得られた血清を400～20000倍に希釈し、そ

の希釈した血清を1ウェル当たり50 μ lの割合で上記96ウェルマイクロプレートに加え、4℃にて一晩反応させた。反応後、96ウェルマイクロプレートを0.05%のTween 20を含むPBSで3回洗浄し、西洋ワサビペルオキシダーゼ（シグマ社製）が結合したヤギ抗マウスIgG1、IgG2a又はIgG2bを200倍に希釈したものを50 μ l加えて、4℃にて2時間インキュベートした。インキュベート後、再び0.05%のTween 20を含むPBSで3回洗浄し、0.1mlのTureBlue Peroxidase Substrate（Kirkegaard & Perry Labs 社製）と共に30分間室温で酵素反応を行った。その後、マイクロプレートリーダー（Biolumin 960；Molecular Dynamics 社製）でOD450を測定した。結果を図3に示す。

これらの結果から、Fc γ R IIBノックアウトマウス（IIB-KO）は、FcR γ ノックアウトマウス（ γ -KO）や野生型マウス（Wild）に比べて、タイプIVコラーゲンに対する抗体価（IgG1、IgG2a、IgG2b又はIgM）の上昇が認められ、グッドパスチャー症候群の所見と矛盾していないことから、グッドパスチャー症候群モデルマウスが作製できたことがわかった。

産業上の利用可能性

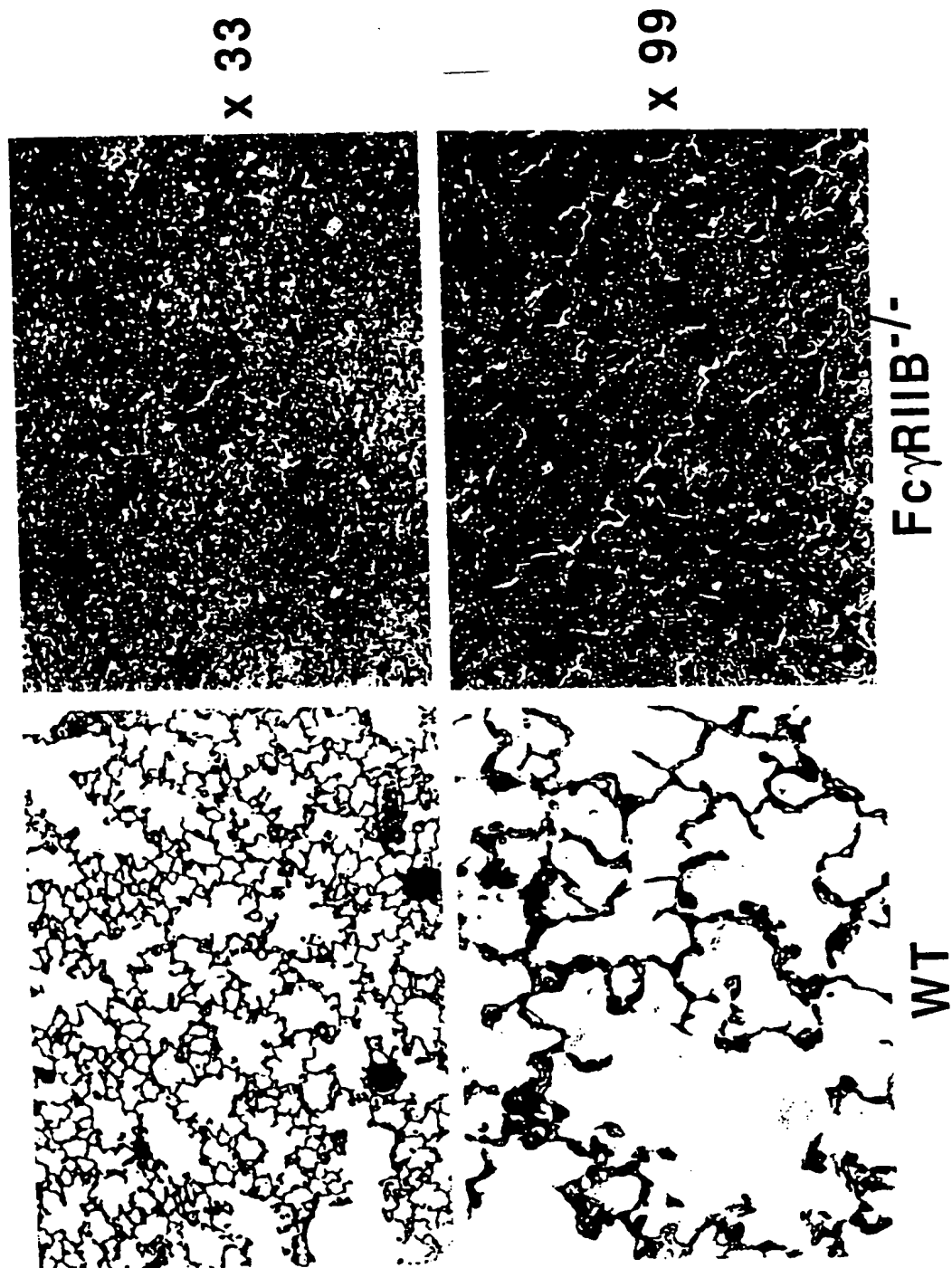
本発明によると、グッドパスチャー症候群モデル非ヒト動物や、これを用いたグッドパスチャー症候群治療薬のスクリーニング方法や、グッドパスチャー症候群の早期診断法を提供することができるので、その発症機構を解明するための適切な病態モデルが存在しておらず治療方法の開発が遅れているグッドパスチャー症候群の治療の道を拓くことができる。

請 求 の 範 囲

1. 免疫グロブリンFc γ レセプターIIB遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物をタイプIVコラーゲンで免疫することにより得られることを特徴とするグッドパスチャー症候群モデル非ヒト動物。
5
2. 非ヒト動物が、マウスであることを特徴とする請求項1記載のグッドパスチャー症候群モデル非ヒト動物。
3. 免疫グロブリンFc γ レセプターIIB遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物をタイプIVコラーゲンで免疫する前後又は免疫すると同時に、該非ヒト動物に被検物質を投与し、グッドパスチャー症候群の発現の程度を指標として評価することを特徴とするグッドパスチャー症候群治療薬のスクリーニング方法。
10
4. グッドパスチャー症候群モデル非ヒト動物に被検物質を投与し、グッドパスチャー症候群の発現の程度を指標として評価することを特徴とするグッドパスチャー症候群治療薬のスクリーニング方法。
15
5. グッドパスチャー症候群の発現の程度を指標として評価するに際し、対照として用いた野生型の非ヒト動物との比較評価を行うことを特徴とする請求項3又は4記載のグッドパスチャー症候群治療薬のスクリーニング方法。
- 20 6. グッドパスチャー症候群の発現が、びまん性肺胞出血、糸球体腎炎及び抗腎糸球体基底膜抗体出現のうちの少なくとも1つであることを特徴とする請求項3～5のいずれか記載のグッドパスチャー症候群治療薬のスクリーニング方法。
7. 非ヒト動物が、マウスであることを特徴とする請求項3～6のいずれか記載のグッドパスチャー症候群治療薬のスクリーニング方法。
25
8. ヒトの被験細胞からFc γ レセプターIIB遺伝子を抽出し、その遺

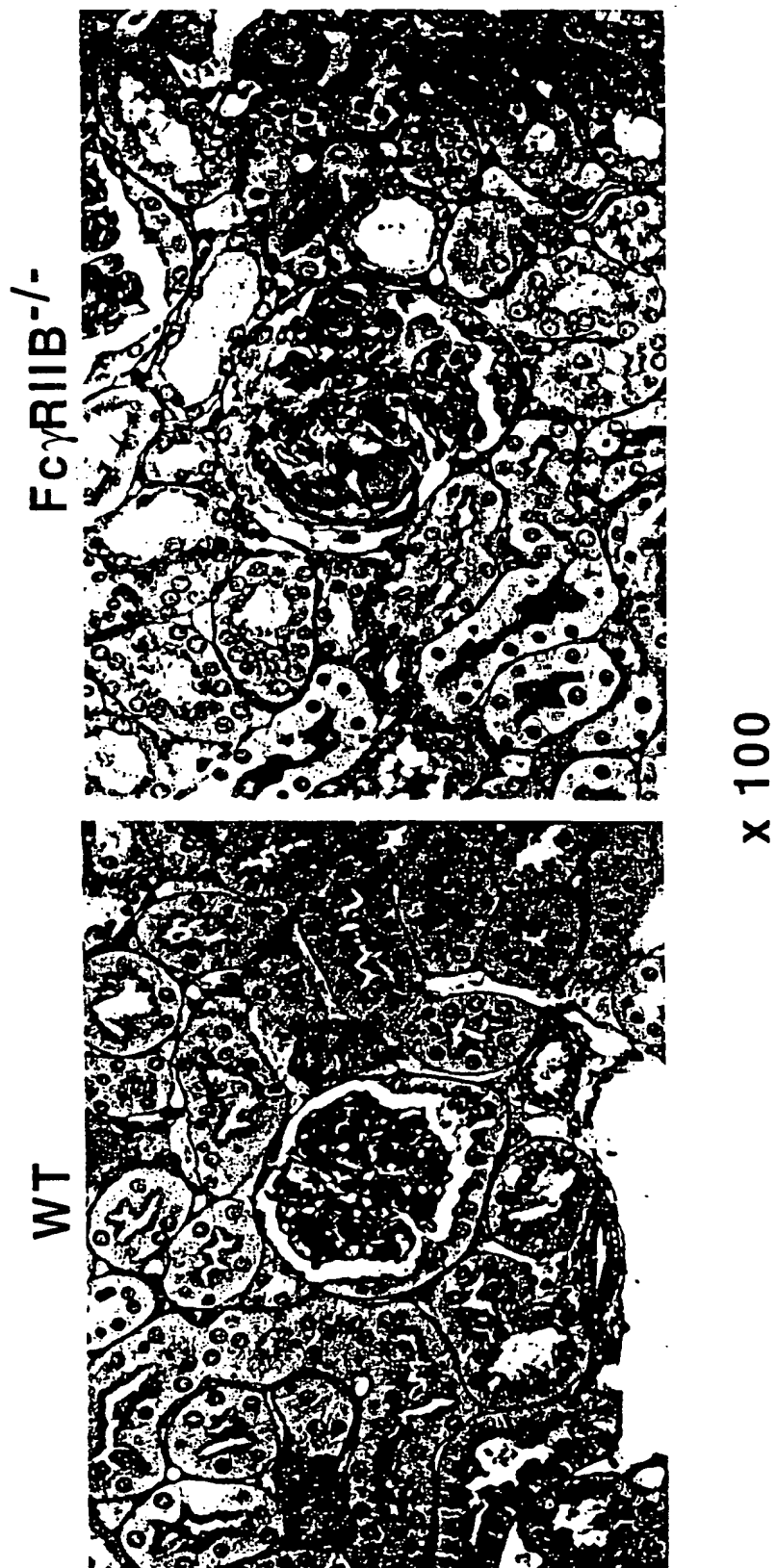
伝子機能の欠損の有無を調べることを特徴とするグッドパスチャー症候群の早期診断法。

第 1 図



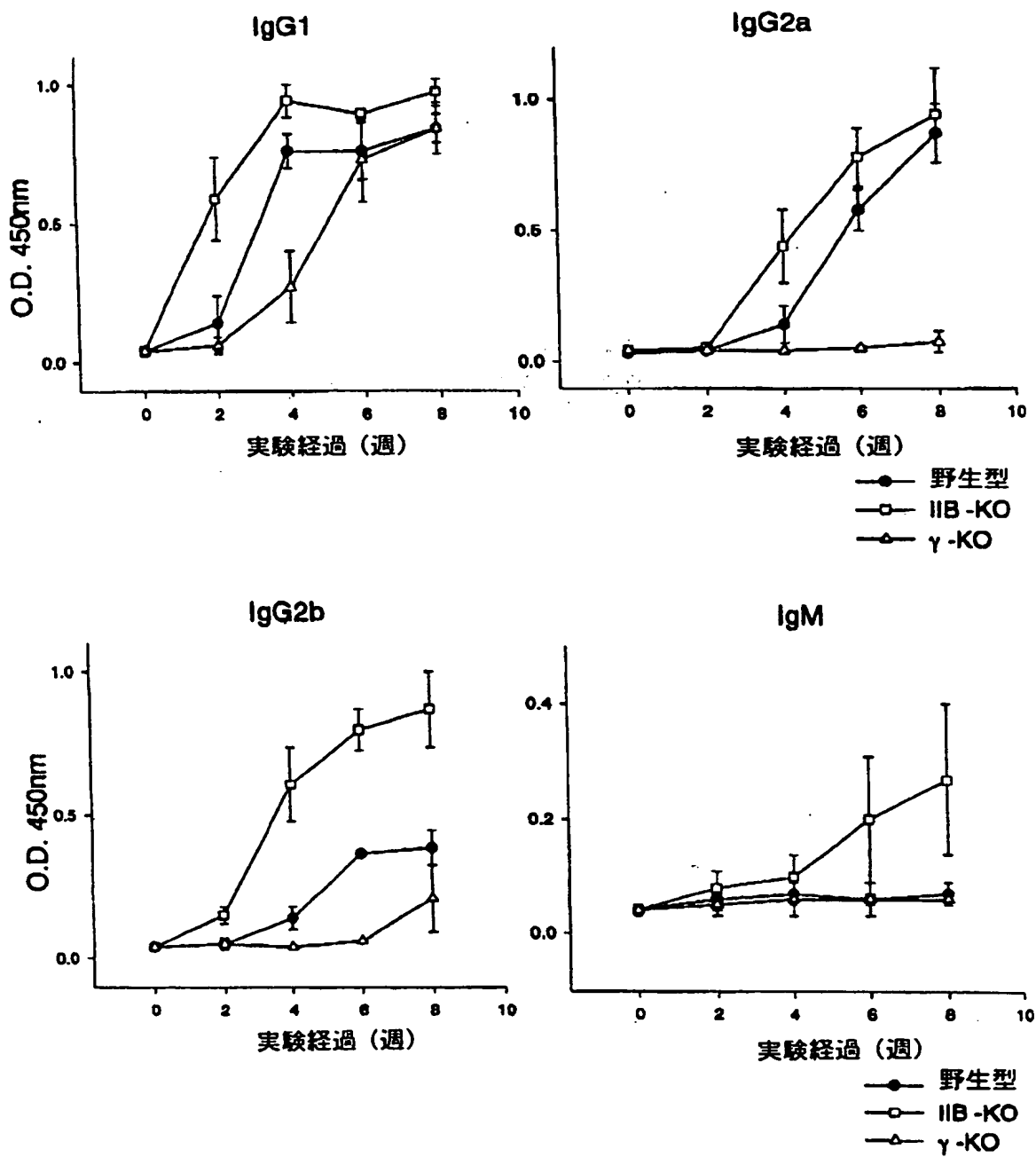
THIS PAGE BLANK (USPTO)

第 2 図



THIS PAGE BLANK (USPTO)

第 3 図



THIS PAGE BLANK (USPTO)